Aus dem Pathologischen Institut des
Städt. Wenckebach-Krankenhauses Berlin Tempelhof
Dirig. Arzt: Priv.-Doz. Dr. med. Claus Jürgen Lüders

VERGLEICHENDE TIEREXPERIMENTELLE HISTOLOGISCHE UND FLUORESZENZMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR ALTERSBESTIMMUNG VON PROLIFERIERENDEM BINDEGEWEBE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

1973

vorgelegt von
Heide Heinze geb. Baumert
aus Berlin

Aus dem Pathologischen Institut des Städt. Wenckebach-Krankenhauses
Berlin-Tempelhof
Dirig. Arzt: Priv.-Doz. Dr. med. Claus Jürgen L ü d e r s

Vergleichende tierexperimentelle histologische und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Altersbestimmung von proliferierendem Bindegewebe

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heide Heinze geb. Baumert
aus Berlin

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. C.J. Lüders

Korreferent: Prof. Dr. med. F. Lindlar

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 15.2.73

UNIV. LEIDEN BIBL.

Inhaltsverzeichnis

Seite

A Einleitung und Fragestellung 3

B Methodik und Versuchsanordnung 3

I. Granulombeuteltechnik in der Rattenrückenhaut
1. Injektionsmethode 4
a) mit Crotonöl
b) mit Bolus alba

2. Implantationsmethode 4
a) mit Cotton pellets
b) mit Kunststoffschwämmchen

II. Gewebsentnahme 5
III. Aufarbeitung 5
IV. Fluoreszenzeinrichtung 6
V. Fotodokumentation 6

C Ergebnisse

I. Makroskopische Befunde
1. Crotonölversuch 7
2. Baumwollgranulomversuch 8

II. Mikroskopische Befunde
1. Histologische Veränderungen im zeitlichen Ablauf am Paraffinschnitt
a) Crotonölversuch 9
b) Baumwollgranulomversuch 17

Seite

2. Fluoreszenzoptische Veränderungen am Gefrierschnitt
a) Vorbemerkung 19
b) Crotonölversuch 20
c) Baumwollgranulomversuch 23

D Besprechung der Befunde 25

E Zusammenfassung 33

F Abbildungen 36

G Literaturverzeichnis 55

A Einleitung und Fragestellung

Die Entwicklung von Granulationsgewebe und seine anschließende Vernarbung ist am Beispiel der Wundheilung experimentell an verschiedenen Tierarten, unter anderem an der Ratte, nach unterschiedlichen Gesichtspunkten, systematisch untersucht worden (2, 6, 10, 11, 16, 22, 23, 25, 27, 28, 33, 34).

Unter Anwendung histologischer, histochemischer und elektronenmikroskopischer Methoden wurde im Experiment, wie besonders LINDNER und Mitarbeiter (17, 18), sowie SELYE (30, 31) und in letzter Zeit BENEKE und Mitarbeiter (29) gezeigt haben, eine zeitliche Bestimmung der Dynamik der Bindegewebsbildung möglich. Gegenüber den genannten aufwendigen Verfahren besteht ein praktisches Bedürfnis nach einer einfachen Methode zur Altersbestimmung von faserbildendem Granulationsgewebe.

Ein kurzer Hinweis von KORB und KNORR (15) auf sichtbare Farbumschläge bei vergleichenden licht- und fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen am frischen Herzinfarkt gab die Veranlassung, mit der fluoreszenzoptischen Methode eine altersmäßige Differenzierung von experimentell gesetzten Granulationen im subkutanen Bindegewebe der Ratte als Modell der inneren Wundheilung zu versuchen.

B Methodik und Versuchsanordnung

Die Versuchsanordnung erfolgte in Anlehnung an SELYE (30) und an LINDNER (20).

I. Granulombeuteltechnik in der Rattenrückenhaut

1. Injektionsmethode

70 etwa 120-150 g schweren weiblichen Wistar-Ratten wurden in Äthernarkose, steril unter die craniale Rückenhaut, nach vorheriger Applikation von 5 ccm Luft, 1,5 ml einer 1 %igen Crotonöllösung injiziert, weiteren 10 Tieren jeweils 1-1,5 ml einer sterilen homogenisierten Suspension von Bolus alba verabreicht (1 g/Tier).

Auf eine großflächige Rasur der Rückenhaut wurde wegen einer Begünstigung von Hautulcera, wie der Vorversuch ergeben hatte, verzichtet.

2. Implantationsmethode

20 etwa 150-180 g schwere weibliche Wistar-Ratten erhielten unter keimarmen Bedingungen jeweils 4-8 sterile, etwa erbsengroße, ca. 5 mg schwere Baumwollimplantate nach oberflächlicher Incision unter die Rückenhaut geschoben, möglichst weit vom Einschnitt entfernt zur Vermeidung einer Interferenz von örtlicher Wundheilung und Granulombildung. Anschließende Versorgung der Operationswunde mit Einzelknopfnähten. Ein Probeversuch mit antibiotikagetränkten Kunststoffschwämmchen, wie sie in der Zahnheilkunde zur Granulationsanregung, z.B. nach Zahnextraktionen, verwendet werden, erwies sich wegen der stark gelb fluoreszierenden, und somit farblich überlagernden, Antibiotikarückstände als nicht geeignet.

Die mit dieser Technik der Kunststoffschwammimplantation (ohne Antibiotikadurchtränkung) durchgeführten Rattenversuche von SCHMITT und BENEKE (29) lagen bei Versuchsbeginn noch nicht vor.

Die Tiere zeigten nach anfänglich stärkerer Aggressivität eine gute Adaptation und kein auffälliges Verhalten.

II. Gewebsentnahme

Die Gewebsentnahme erfolgte nach Tötung der Tiere mittels Ätherüberdosierung unter möglichster Schonung der Granulome, entsprechend der zu erwartenden Maxima von Zell-, Grundsubstanz- und Faserbildung: am 2., 4., 6., 12. und 18. Tag bzw. darüber hinaus am 30., 42., 54. und 70. Tag.

Gelegentlich ergaben sich Schwierigkeiten der Herauslösung, wenn die Injektion bis in angrenzende Muskulatur erfolgt war.

Das neugebildete, entnommene Gewebe schwankte zwischen Kastanien- und Erbsengröße. Zentral fand sich stets ein Hohlraum, welcher in den meisten Fällen eine Tendenz zur Kammerbildung zeigte und Reste des jeweiligen Reizmittels enthielt.

III. Aufarbeitung

Die Granulome wurden sofort nach Entnahme halbiert, ein Teil in 5 %igem Formalin für mindestens 48 Stunden fixiert. Der andere wurde frisch, unfixiert, mittels Messertiefkühlung gefriergeschnitten. Die Temperatur betrug dabei, je nach Konsistenz, - 15° bis - 20° Celsius. Die Gefrierschnittdicke schwankte aus gleichen Gründen zwischen 8 und 12 μ. Pro Gewebestück wurden 6 - 8 Schnitte in verschiedenen Ebenen angefertigt, davon einer zur Kontrolle der Eigenfluoreszenz.

Nach dem Auffangen in Wasser erfolgte die Fluoreszenzfärbung mit Acridinorange in einer Verdünnung von 1 : 10 000 bis zu 15 Min. bei einem pH-Wert von 6,2 bis 6,5. Sodann wurden die Schnitte in Michaelis-Puffer-Lösung eingebettet (pH ebenfalls um 6,5) und mit Eukitt abgedichtet.

Die pH-Kontrolle wurde laufend an einem geeichten Meßgerät durchgeführt (WTW, Type pH 390).

Von einer Coriphosphinfärbung sahen wir ab, da,aufgrund der verwendeten, z.T. öligen Substanzen, ein eindeutiges positives Färbeergebnis nicht zu erwarten war.

Der formalinfixierte Teil wurde nach Paraffineinbettung geschnitten und mit Hämalaun-Eosin, van Gieson und Azan gefärbt, außerdem wurde selektiv die PAS- und Fe-Reaktion nach Turnbull durchgeführt.

IV. Fluoreszenzeinrichtung

Zur fluoreszenzoptischen Untersuchung diente ein ZEISS-Junior-Standard Mikroskop mit entsprechenden Filtervorsätzen. Wir arbeiteten mit der folgenden Kombination:
Erregerfilter BG 12, UG 2
Sperrfilter OG 4 oder OG 5 und GG 4
Als Lichtquelle bewährte sich eine Quecksilberbogenlampe (OSRAM HBO 200).

V. Fotodokumentation

Wegen der begrenzten Haltbarkeit (vergl. S. 20) wurden die Präparate sofort fotografiert.

Hierzu stand eine Exakta Varex mit speziellem Aufsatztubus zur Verfügung. Wir benutzten einen Agfa-Tageslichtfilm (CT 18). Die Belichtungszeiten lagen je nach Präparat und Vergrößerung zwischen 50 und 110 sec. Die Paraffinschnitte wurden mit dem ZEISS-Fotomikroskop dokumentiert.

C Ergebnisse

I. Makroskopische Befunde

1. Crotonölversuch

Die Tiere entwickelten während der Versuchsdauer unterschiedlich große Granulome im subkutanen Bindegewebe der Rückenhaut, meist kugelig, mitunter auch oval. Die Größe nahm mit zunehmendem Alter ab. So fanden sich in den ersten sechs Tagen grauweiße, zystische Gebilde von Walnuß- bis Kastaniengröße, welche eine Wandstärke von etwa einem Millimeter aufwiesen und zentral jeweils eine Ansammlung des injizierten Reizmittels enthielten, eingedickt sowie hin und wieder untermischt mit Blut oder Eiter.
Häufig bestand eine unterschiedlich stark ausgebildete Neigung zur Kammerbildung.

Mit zunehmendem Alter reduzierte sich die Neubildung auf Kirsch-, später auf Haselnuß- und Erbsengröße. Die Verhältnisse im Innern blieben stets ähnlich, lediglich die Wand wurde fester und nahm gering an Durchmesser zu, zur wesentlichen Erleichterung der Praeparation und der unfixierten Aufarbeitung.

Eine vollständige bindegewebige Organisation der Zyste bis

zur einheitlichen hyalinen Narbe blieb jedoch, zumindest bis zum 70. Tag in allen Fällen aus, wenn auch deutliche Tendenzen dazu erkennbar waren, wie später dargestellt wird.

Bei den mit Kaolin praeparierten Tieren fanden sich gleichartige Granulome mit zentral eingedickten Resten von Bolus alba, ohne wesentliche Anzeichen von Infektion.

Eine Ausnahme stellten diejenigen Versuchstiere dar (6 Tiere), welche aufgrund einer örtlichen Ernährungsstörung oder Infektion Ulcera und Nekrosen bildeten. Diese, meist in den ersten zehn Tagen beobachteten Komplikationen, heilten narbig aus ohne Granulombildung.

Als Sonderfälle sind drei Tiere zu betrachten, von denen eines wegen einer Sekundärinfektion mit gasbildenden Keimen (E. coli?) und Ausbildung einer hühnereigroßen, prallen Vorwölbung, welche später (12. Tag) spontan perforierte, getötet werden mußte. Zwei weitere starben an den Folgen einer schweren Allgemeininfektion, sie zeigten hochgradig vereiterte, in Einschmelzung begriffene Granulome.

2. Baumwollgranulomversuch

Trotz sorgfältiger Arbeitsweise war die Zahl der Sekundärinfektionen höher als bei dem technisch unkomplizierteren Injektionsverfahren, mitunter bis zur Sequestrierung und Abstoßung der Implantate (bei 4 von 20 Tieren).

Bei optimal plazierten Baumwollkügelchen entstanden schon nach wenigen Tagen gut abgekapselte, kaum entzündlich veränderte, haselnuß- bis bohnengroße, grauweiße, feste Granulome, welche im Zentrum komprimierte Reste des Implantates enthielten.

Naturgemäß kam es zu keinerlei Kammerbildung, vielmehr erfolgte eine Durchwachsung von außen her.
Die histologische Untersuchung wurde nach gleichen Gesichtspunkten wie oben vorgenommen (vergl. S. 5).
Auf die Auswertung der Granulome nach Kunststoffschwammimplantation wurde aus den angegebenen Gründen verzichtet (vergl. S. 4).

II. Mikroskopische Befunde

1. Histologische Veränderungen im zeitlichen Ablauf am Paraffinschnitt.

Die Untersuchung des gewonnenen Materials zeigte nach Paraffineinbettung mit Hilfe der genannten Färbungen und Reaktionen zu den angegebenen Zeitpunkten folgende Veränderungen:

a) Crotonölversuch

2. Tag: In der Übersicht findet man zentral eine Höhle, die durch einen unterschiedlich breiten Saum segmentierter Granulozyten eingefaßt ist, durchmischt mit Zelldetritus und Fibrin, Erythrozyten, sowie größeren Mengen eines eiweißhaltigen Exsudates, in dessen geronnenen Maschen die Zellen liegen, darunter auch Eosinophile und Histiozyten bzw. Mastzellen (Abb. 1). Vereinzelt sind Bakterien-Kolonien eingelagert.

Nach außen bildet ortsständiges Gewebe die Begrenzung, meist Fettgewebe, z.T. bereits nekrotisch und quergestreifte Muskulatur, welche teilweise granulozytär durchsetzt und aufgesplittert, bzw. in Myolyse begriffen ist.

Inmitten des Granulozytenwalles sind noch Reste praeformierten Gewebes erkennbar, in Form größerer, deutlich konturierter, partiell thrombosierter Gefäße. Mit der PAS-Reaktion treten in der Außenzone des granulozytären Randwalles Makrophagen mit positiven Granula hervor, ebenso nicht speichernde histiozytäre Elemente und Mastzellen.

Die Gefäße fallen im gesamten Randgebiet durch ihre starke Blutfülle auf. Daneben finden sich auch diffuse Erythrozytenextravasate, durchsetzt mit zahlreichen Granulozyten und Fibringerinnseln.

Ein regelhafter geschichteter Wandaufbau ist noch nicht vorhanden. Es läßt sich lediglich eine grobe Einteilung treffen, von innen nach außen (Abb. 2):
1. Zentraler Hohlraum, mit netzförmigen Fibringerinnseln,
2. breiter Randsaum aus verdichtetem Fibrin mit leukozytärer Durchsetzung,
3. erhaltenes oedematös aufgelockertes Gewebe, Fett- und Muskelgewebe mit beginnender Fibroblastensprossung in der Grenzzone.

4. Tag: 48 Stunden später hat sich eine deutliche Wandlung vollzogen. Der Querschnitt ist jetzt folgendermaßen: Der zentrale Hohlraum ist tapetenartig mit einem leuchtend Azan-roten Fibrinfilm bedeckt, teils plattenförmig, teils balkig und feinnetzig (Abb. 3 u. 4). Statt des leukozytären Randwalles ein breiter Saum jungen Granulationsgewebes. Neben gewucherten Fibroblasten mit ausgezipfeltem, untereinander kommunizierenden Zytoplasma und mit Übergang in ein zartes Netzwerk sind zahlreiche Kapillaren gesproßt (Abb. 3 u. 4), welche häufig radiär zum Hohlraum verlaufen. Weite Gefäße in der Außenzone enthalten ver-

mehrt Granulozyten. Diese, darunter auch Eosinophile, liegen frei in den Maschen des faserigen Geflechtes (Abb. 4). Die Fibroblasten zeigen große, plump-spindelige Kerne mit einzelnen Mitosen.

In der Wand haben sich auch bereits einige der später reichlich anzutreffenden, optisch leeren Ölzysten gebildet. Zwischen granulierendem Randwall und Muskelschicht findet sich häufig eine Zone stark oedemdurchtränkten Fett-Bindegewebes mit locker verteilten, speichernden Histiozyten, wobei neben granulären und vakuolären Einschlüssen Zellen mit phagozytierten Erythrozyten aus den dortigen Extravasaten häufig anzutreffen sind.

In anderen Abschnitten mit besser erhaltenem Fettgewebe auch Zeichen des streifig-grobnetzförmigen Einwucherns von Fibroblasten aus der Granulationszone, hier nur spärliche Makrophagen.

Häufig grenzt auch der Granulationswall direkt an die Muskulatur, wobei, neben einem interstitiellen Oedem mit netzigen Fibrinniederschlägen, zahlreiche Muskelfasern frische Degenerationen in Form einer Hyalinisierung oder vakuolären Auflösung zeigen.

Am 6. Tag bieten die jetzt haselnuß- bis kirschgroßen Granulome in ihrem Wandaufbau folgende charakteristischen Merkmale:
In der Innenzone ein diskontinuierlicher Fibrinstreifen, der in einigen Fällen netzig-balkige Ausläufer zeigt, die frei im Hohlraum flottieren. Innerhalb des Fibrins auch Erythrozytenansammlungen sowie in mehreren Fällen reichlich Granulozyten und Bakterienkolonien.

Der Granulationswall ist jetzt besonders in der Innenzone durch zahlreiche, z.T. kommunizierende, optisch leere Lückenbildungen verschiedener Größe gekennzeichnet, die von herausgelösten Crotonölmassen herrühren (Abb. 5 a u. b).

Die dichtgepackten Hohlräume sind netzförmig eingefaßt durch ein locker gefügtes, kapillarhaltiges Granulationsgewebe. An Stellen ohne Ölzysten sind Kapillarsprossungen besenreiserartig aufgepinselt gegen den zentralen Hohlraum gerichtet (Abb. 6).

Die Fibroblastenkerne sind meist groß und oval, unterschiedlich chromatinreich und zeigen nur vereinzelt Mitosen. Zwischen den Granulationen sind häufig, plattenartig und grobnetzig angeordnet, ältere Fibrinabscheidungen erhalten.

Das Gewebe verdichtet sich in der Außenzone zu faserreichen, mehr parallel verlaufenden Geflechten, die sinusartig erweiterte, prall mit Blut gefüllte Kapillaren einschließen.

Die Außenzone des Granulationswalles schließt zugleich Reste organisatorisch durchwachsenen Fettgewebes ein, ebenso aufgesplitterte Muskelfasern. Benachbart mehr oder minder gut erhaltene Zonen des ortsständigen Fett- oder Muskelgewebes, wobei interstitiell und kollateral wiederum ein starkes Oedem ins Auge fällt, das von zahlreichen speichernden Makrophagen, Mastzellen und jungen Fibroblasten (vergl. oben) durchsetzt ist.
In einigen Makrophagen bereits eine positive Eisenreaktion neben frei abgelagertem haemosiderotischen Pigment.

12. Tag: Die zentrale Höhle enthält weiterhin netzartig angeordnete Fibrinfäden und -balken, durchmischt mit mehr oder minder dicht liegenden Leukozyten, Zelldetritus und stellenweise auch mit Blut.

An der Innenfläche nur noch Reste des Leukozytenwalles, darunter ein teils locker gefügtes, teils verdichtetes Granulationsgewebe mit schmalen Kapillarspalten. Eingelagert, in unregelmäßiger Verteilung, kleine Felder fettspeichernder Histiozyten (vergl. Abb. 11 a) und auch einzelne Riesenzellen vom Fremdkörpertyp.

Insgesamt hat sich eine breite stabilisierte Wand gebildet, die in meist dichter Anordnung wiederum große und kleinere, zystenartig kommunizierende Crotonöllücken einschließt. Die Innenfläche ist gebuchtet. Spornartige Vorsprünge gehen in Fibrinbalken über (Abb. 7 a), die in die Höhle flottieren und oberflächlich, gewissermaßen als Leitschiene, von wuchernden Fibroblasten bedeckt sind (Abb. 7 b). Abschnittsweise enthält das Granulationsgewebe Haemosiderin, teils frei, teils zellulär gespeichert.

Die Granulationen zwischen den Crotonölrückständen sind locker gefügt, in anderen Fällen faserig ausgereift, wobei sich in der Innenzone bereits, offenbar durch den Binnendruck der Zyste, eine angedeutete parallele Ausrichtung der Fasern erkennen läßt. Stellenweise ist auch in der Außenzone, angrenzend an das praeformierte Fett- und Muskelgewebe, eine solche parallele Formation der kollagenen Fasern, in der Azan-Färbung als unregelmäßiger blauer, z.T. wellenförmiger Ring darstellbar.

Die Fibroblastenkerne sind in den bindegewebig stabilisierten Zonen kleiner und dichter. Eingelagert relativ spärliche mobile Zellen, die sich nur selten als Granulozyten, öfter als Rundzellen erweisen.

Im Grenzbereich zum praeformierten Fettgewebe wieder eine Zone des Oedems mit Sprossungen der Fibroblasten, einigen Kapillaren mit zarter Faserbildung und mit lockerer Einlagerung histiozytärer Zellen und speichernder Makrophagen.

18. Tag: Bei größeren zentralen Zysten ist die Innenfläche jetzt glatt (Abb. 8), während bei kleineren, neben aktiven kapillarhaltigen Granulationen Schaumzellproliferationen auftreten, die in einigen Buchten saumartig angeordnet sind (Abb. 9). Neben den Schaumzellen auch Speicherzellen mit PAS-positiven Granula und Haemosiderin.

Insgesamt läßt sich, besonders bei den größeren Hohlraumbildungen, eine gewisse Schichtung der Wand abgrenzen, wobei jetzt innen ein aus parallelen Fasern gebildeter Ring darstellbar ist und sich auch nach außen hin ein ähnlicher Wall demarkiert (Abb. 8 u. 9). Die mittlere Zone mit den eingelagerten Ölzysten enthält weiterhin, jeweils in engem Kontakt mit dem Fremdkörper, ein kapillarreiches Granulationsgewebe, untermischt mit Histiozyten, meist in Speicherform. Die Granulozyten sind selten, während lymphozytäre Elemente stark zugenommen haben (Abb. 10), gelegentlich bereits in Haufen gelagert.

In der Innenzone der parallelen Fasern sind die Kapillaren komprimiert und kaum abgrenzbar. Die Fibroblastenkerne zeigen jetzt in diesem Bereich lockere, z.T. fast durchsichtige, vakuolige Kernstrukturen.

Die genannten Zonen markieren sich besonders mit der Azan-Färbung in Form eines blauen Innen- und Außenringes sowie der rot-tingierten frischen Granulationen um die Ölzysten.

In Fällen mit kleineren Zentralzysten findet man anstelle des Lumens ein lockeres Fasergerüst, welches dichtliegende, optisch leere Lücken von Crotonölrückständen umschließt und herdförmig schaumzellartige histiozytäre Speicherzellen (Abb. 11 a), sowie Fremdkörperriesenzellen enthält (Abb. 11 b).

Das kollaterale Oedem der Außenzone mit Zeichen der Induktion zur Faserbildung ist gegenüber den Voruntersuchungen schwächer ausgeprägt.

30. Tag: Die Wand der Granulome ist im Prinzip gleichartig gebaut, wobei die kollagenfaserige Innenzone sich jetzt zellärmer darstellt und stellenweise hyalin umgewandelt ist.

Je nach Menge der intramuralen Crotonölrückstände findet sich weiterhin ein aktives, kapillarreiches Granulationsgewebe mit Histio- und Lymphozyten. An der Innenfläche kleiner Zysten sind wiederum netzförmig angeordnete Fibroblastenwucherungen ausgebildet, z.T. noch deutlich erkennbar auf balkigen Fibrinrückständen entwickelt, mit Einschluß von Crotonöllücken sowie in Verbindung mit Schaumzellen und speichernden Histiozyten (Abb. 12).

42. Tag: Die von drei Tieren untersuchten Granulome lassen gegenüber dem 30. Tag prinzipielle Unterschiede nicht erkennen.

Augenfällig an diesem Material sind die relativ reichlichen Haemosiderindepots, besonders in der Außenzone, ebenso ein noch deutliches kollaterales Oedem im randständigen Fettgewebe mit Sprossung von Fibroblasten und zahlreichen Speicherzellen verschiedener Art.

In zwei Fällen erkennt man in der Wand spangenförmige und schollige Verkalkungen, z.T. von Riesenzellen umlagert (Abb. 13) oder durch kollagenfaserige Ringe abgegrenzt.

54. Tag: Auch zu diesem Zeitpunkt sind Unterschiede im Aufbau der Granulome nicht mehr festzustellen. An der Innenfläche einer Zyste, wiederum auf der Leitschiene eines älteren Fibringerüstes, eine Fibroblastenwucherung mit Zeichen partieller Überbrückung des Hohlraumes. In einem anderen Fall ist der Hohlraum neben dem Fibroblastennetzwerk durch ausgedehnte Schaumzellfelder fast ausgefüllt.

Ansonsten findet sich eine wallartige Innenzone, deren Breite und Dichte wechselt. Die Fasern verlaufen z.T. stark gewellt und wirbelartig (Abb. 14). Bei einem Tier finden sich in der Außenzone kompakte epitheloidzellartige Granulome, in Verbindung mit einem kapillarhaltigen Granulationsgewebe, das stark zellig infiltriert ist und reichlich Eosinophile enthält, daneben auch haemosiderotische Speicherzellen. Hierbei scheint es sich um einen vom Versuchsergebnis unabhängigen Prozeß zu handeln.

Die Aktivität der intramuralen Granulationen in Nachbarschaft der Crotonölrückstände ist unverändert stark.

70. Tag: Es finden sich gleichartige Veränderungen wie am 54. Tag.

b) Baumwollgranulomversuch

4. Tag: Man findet bereits einen typischen Wandaufbau, welcher von innen nach außen folgende Stufen erkennen läßt: Im Zentrum, inmitten junger, kapillarreicher, oft palisaden- oder netzartig angeordneter Fibroblastensprossungen finden sich reichlich, z.T. von Riesenzellen umschlossene Baumwollfaserreste (Abb. 15). Diese sind feinnetzig von Fibrinfäden umsponnen. Zwischen ihnen erkennt man ausgetretene Erythrozyten und z.T. in Haufen konzentrierte Granulozyten. Im Randgebiet sind neben den proliferierenden Fibroblasten zarte Kapillaren gesproßt, z.T. in netzförmiger Anordnung.

Auf diese Zone folgt ein breiter Wall eines basophilen kapillarreichen Granulationsgewebes mit zahlreichen Fibroblasten und mit lockerer Infiltration durch neutro- und eosinophile Granulozyten, ebenso durch histiozytäre Zellelemente mit deutlich abgegrenzten PAS-positiven bzw. Azan-roten Einschlüssen.

Nach außen zu ein kollaterales Oedem mit Fibroblastensprossungen, sowie vereinzelten, neugebildeten Kapillaren und mit locker verteilten speichernden Histiozyten und Mastzellen. Diese Zone splittert benachbarte Muskulatur und Fettgewebe auf, wobei die Muskelfasern oft einer Myolyse anheim gefallen sind.

6. Tag: Das Implantat ist bereits zu einem Teil von Granulationsgewebe durchwachsen, wobei die Baumwollfaserreste, bizarr geformt, von Riesenzellen umlagert sind.

Die Granulationen bestehen wiederum aus einem zarten Faserfilz, Fibroblasten und verästelten Kapillaren. Die Fibroblasten sind stark aufgequollen und besitzen plump ovale Kerne.

12. Tag: Die Baumwollfaserreste sind in aufgesplitterter Form von einem teils zarten, teils schon dichtfaserigen Maschenwerk eingeschlossen, wobei die Kapillaren gegenüber den Fasern zurücktreten. In der Umgebung der Baumwollfasern mehrkernige Riesenzellen des Fremdkörpertyps (Abb. 16), z.T. auch mit kranzförmiger Anordnung der Kerne. Abschnittsweise stößt man auf mit Granulozyten ausgefüllte gröbere Lücken und Spalträume, inmitten oder am Rand der Fremdkörpergranulationen. Die letzteren enthalten auch locker verteilte histiozytäre Zellen mit granuliertem Zytoplasma, in Feldern geordnet, meist am Rand der abszessartigen Einschmelzungen, hin und wieder mit deutlicher Fettspeicherung in Form von Schaumzellen (Abb. 17). Die Kerne der Fibroblasten sind aufgequollen und chromatinarm; es treten jetzt auch vermehrt Lymphozyten auf.

18. Tag: Das Granulom hat nun die Form eines nahezu kompakten kleinen Gewebsstückes, dicht durchsetzt mit Baumwollresten, diese von Riesenzellen umlagert. Gelegentlich finden sich noch kleine, mit segmentierten Granulozyten ausgefüllte, unregelmäßig verteilte Lücken; ansonsten locker verteilte eosinophile Granulozyten, Histiozyten und nicht wenige Plasmazellen, letztere in der Außenzone wallartig angeordnet. Die Bindegewebsfasern sind dichter, breiter und z.T. hyalin umgewandelt. Fibroblastenkerne meist blasig aufgetrieben, abgeblaßt und verdämmert.

Auch am 30. Tag findet sich wiederum ein kompakter Knoten mit aufgesplitterten Baumwollfaserresten und mit zahllosen bizarren anliegenden Riesenzellen, die gegenüber den vorausgegangenen Versuchstagen deutlich an Größe und Zahl der Kerne zugenommen haben und außerdem eine Neigung zur Konfluenz besitzen, sodaß auf weite Strecken Riesenzellsymplasmen das Bild beherrschen (Abb. 18). Das Zwischengewebe erscheint zellärmer und z.T. hyalinisiert. Die Fibroblastenkerne sind jetzt klein und verdichtet. In der Außenzone stellenweise haemosiderotische Speicherzellen und Rundzellinfiltrate, vor allem Plasmazellen, hin und wieder auch Schaumzellen.

42. Tag: Gleichartige gewebliche Strukturen wie am 30. Tag. Neben den Riesenzellen sind innerhalb des Granuloms zahlreiche histiozytäre Zellen anzutreffen, z.T. mit Speicherphänomenen. In einem Fall ein großer Reichtum an Plasmazellen innerhalb des Granuloms (Abb. 19).

2. Fluoreszenzoptische Veränderungen am Gefrierschnitt.

a) Vorbemerkung

Aus technischen Gründen (Gefrierschneiden von unfixiertem, überwiegend ölhaltigen Material) war es nicht immer möglich, einen regulären Wandquerschnitt des Granulombeutels (Durchmesser 1-1,5 mm) zu erhalten, welcher einen genauen Vergleich mit den nach Paraffineinbettung hergestellten Schnitten zuließ. Dagegen gelang es in allen Fällen, großflächige Tangentialschnitte der Granulombeutelwand zu gewinnen, die jedoch eine exakte Orientierung am zeitlichen und örtlichen Ablauf der Gewebsproliferationen nur schwer ermöglichen.

Zudem wirkt sich der Verbleib des ebenfalls fluoreszierenden Crotonöls im Granulationsgewebe für die Beurteilung störend aus. Weiterhin muß berücksichtigt werden, daß auch bei sorgfältiger Praeparation Teile ortsständigen Gewebes anhaften.

Fehlinterpretationen lassen sich in erster Linie durch eine einheitliche Bearbeitung, sowie durch wiederholte pH-Kontrollen vermeiden. Auch die Schnittdicke und die Dichtungsmasse spielen für die fluoreszenzoptische Beurteilung eine Rolle, desgleichen das Alter der Schnitte.

Die Fluoreszenzintensität fiel bei Kontrollen regelmäßig innerhalb der ersten 48 Stunden stark ab, um dann für längere Zeit konstant zu bleiben. Trotz sorgfältiger Abdichtung führte die Lufteinwirkung zur Zersetzung von Farblösung und Puffer. Die Herstellung einwandfreier Dauerpraeparate bereitete daher erhebliche Schwierigkeiten, so daß in jedem Fall eine Fotodokumentation erforderlich war.

b) Crotonölversuch

Da wegen der relativ hohen Schnittdicke sowie der Einbettung in Pufferlösung morphologische Studien erschwert sind, konzentriert sich die Beschreibung in erster Linie auf farbliche Besonderheiten.

Das untersuchte Gewebe besitzt keinerlei Eigenfluoreszenz. Nach Färbung mit Acridinorange lassen sich am frischen Praeparat folgende Untersuchungen der Sekundärfluoreszenz machen:
2. und 4. Tag: In der Übersicht findet sich Gewebe, welches durch seine farblich variierenden, ineinandergreifenden Bezirke ein landkartenähnliches Aussehen erhält (Abb. 20 a u. b). Die Orientierung ist erleichtert durch

die verschiedenfarbigen, stark fluoreszierenden Ölrückstände, welche von Zellen umgeben sind. Sie entsprechen den optisch leeren Räumen der Paraffinschnitte. Ihre Farbskala reicht in buntem Wechsel von grüngelb über orange bis zu kräftigem Rot. Die frischen netzförmigen, fibrinhaltigen Granulationen sind auch ohne morphologische Details sofort an ihrer leuchtend grünen Fluoreszenz erkennbar (Abb. 21). Auch die aufgelagerten und die in die zentrale Höhle flottierenden Fibrinfäden imponieren als ein grünes Netzwerk. Anhaftende Fibroblasten sind durch ihren hellgelbgrünen Kern abzugrenzen. Innerhalb der Granulationen zeigen die Fibroblasten die gleiche Fluoreszenz.

Zellgrenzen sind dagegen nicht deutlich erkennbar. Das Zytoplasma der Fibroblasten und die Zwischensubstanz besitzen eine mattgrüne Fluoreszenz und wirken leicht verschleiert. Kollagene Fasern oder ihre Vorstufen sind nicht abgrenzbar. Deutlich markiert sich dagegen in mehreren Fällen der gelbgrüne Granulozytenwall an der Innenfläche (Abb. 22). Wandernde Leukozyten in der Wand fluoreszieren ebenfalls hellgelbgrün.

Im Bereich der intramuralen grobmaschigen Ölzysten ist das Alter des Granulationsgewebes anhand seiner Färbung von grün bis gelbbraun gut abzulesen (Abb. 23).

Je weiter man sich vom Zentrum entfernt, desto größer wird der Anteil des ortsständigen Gewebes, häufig durch Oedemzonen aufgelockert. Abschnittsweise erkennt man quergestreifte, mattgrün fluoreszierende Muskulatur, die durch Umbauvorgänge aufgesplittert und zellig durchsetzt ist.

Nerven sind als mattgrün gewellte Bänder dargestellt, jüngere Kapillaren nur als Spalträume zu erkennen, größere arterielle Gefäße dagegen an ihrer zartgrünen muskulären Wand und den eingelagerten orangegelben elastischen Fasern. Die Erythrozyten imponieren als kleine mattgrüne Körperchen.

In allen Schnitten finden sich in der Außenzone die oedematös aufgelockerten, zarten, ebenfalls grün fluoreszierenden Bindegewebsareale, in denen man, besonders in Gefäßnähe, größere Ansammlungen leuchtend rot fluoreszierender Mastzellen mit grünen Kernen antrifft (Abb. 24). Praeformierte, dichte kollagene Faserbündel stellen sich braun dar.

6. Tag: Die Übersicht ist jetzt durch deutliche zonale Farbunterschiede gekennzeichnet. In unmittelbarer Nähe der vielfarbigen Öldepots überwiegen noch die dichtliegenden, spindelig bis ovalen, grün leuchtenden Fibroblastenkerne, umgeben von zartgrüner Zwischensubstanz. In den angrenzenden Partien wechselt der Farbton bereits ins Gelbgrün- bzw. Gelbbräunliche (Abb. 25). Die Kerne fluoreszieren schwächer, vereinzelt erkennt man feine goldgelbe Granula im Zytoplasma der Fibroblasten, ebenso in den schwer abgrenzbaren histiozytären Zellelementen.

Nach dem 6. Tag bis zum 12. Tag nehmen die gelb-rötlichbraunen Granula im Zelleib zu, auch die Kerne erscheinen allmählich in einem leuchtenden Kupferrot.

18. Tag: Mit zunehmendem Alter werden die grün fluoreszierenden Bezirke immer spärlicher, auch im Bereich der

Lückenbildungen überwiegen jetzt braun fluoreszierende Netze (Abb. 26 a u. b). In Zonen mit zunehmender Fibrosierung und teilweiser Hyalinisierung finden sich entsprechende kräftig braune Verdichtungsbezirke mit deutlich verminderten Kernen (Abb. 27). Diese fluoreszieren weiterhin kupferrot bis rotbraun.

Am 30., 42., und 70. Tag sind die Fluoreszenzergebnisse im wesentlichen unverändert. Auch jetzt findet man in Nähe der Ölrückstände noch grünliche Areale, analog zu den Azan-roten Bezirken. Sonst überwiegt jedoch das Braun des älteren Granulationsgewebes (vergl. Abb. 27).

An der Innenfläche zentraler Hohlräume auch zu diesem Zeitpunkt noch einige mehr grünbraun fluoreszierende Fibrinbalken (Abb. 28 a u. b) sowie jüngeres Granulationsgewebe. Bemerkenswert ist, daß während der ganzen Zeit das oedematös aufgelockerte Bindegewebe der Außenzone seine zarte Grün-Fluoreszenz behält, ganz entsprechend der gewebekulturartigen Beschaffenheit in den Paraffinschnitten (vergl. oben).

c) Baumwollgranulomversuch

Die Aufarbeitung erfolgte in jeweils sechs bis acht Stufen. Aus technischen Gründen führten Untersuchungen am 2. Tag zu keinen verwertbaren Ergebnissen.

4.-6. Tag: Beim Vergleich der einzelnen Stufen zeigt die Fluoreszenz von innen nach außen farbliche Unterschiede in zonaler Gliederung, ganz in Übereinstimmung mit den Ergebnissen des Crotonölversuches.

Zentral, im Bereich der jüngsten Wachstumszone, erkennt man reichlich anhaftende, leuchtend gelb bis gelbgrün fluoreszierende Baumwollreste, die dicht zellig durchsetzt sind. Die Fibroblastenkerne erscheinen ebenfalls hellgrün (Abb. 29). Es besteht eine deutliche Demarkierung gegen die nachfolgenden Schichten, welche bereits eine Minderung der Kernfluoreszenz erkennen lassen. Das Zytoplasma zeigt hier einen gelblich-bräunlichen Farbton.

In den verschiedenen Stufen finden sich, insel- oder zungenförmig angeordnet, jüngere Ausläufer des Granulationsgewebes mit gelbgrüner Kernfluoreszenz und mit eingeschlossenen Baumwollfasern, die ebenfalls etwas an Leuchtkraft verloren haben (Abb. 30).

Je weiter man sich vom Zentrum entfernt, d.h. je älter das Granulationsgewebe, desto gleichmäßig bräunlicher wird die Fluoreszenz, bis man in den äußeren Schichten auf ortsständiges Gewebe stößt, unter anderem mattgrün fluoreszierende Nerven sowie Gefäße mit deutlich erkennbarer gelbrötlicher Elastica. In Gefäßnähe, wie auch im Crotonölversuch beobachtet, dichtliegende Mastzellen mit rot fluoreszierenden Granula.

12. Tag: Die Baumwollfaserreste nehmen von innen nach außen ab, infolge Zunahme des umgebenden Granulationsgewebes. Sie zeigen eine gelbbraun fluoreszierende Umrandung, welche auf die umgebenden Fremdkörperriesenzellen zu beziehen ist. Die Zellen selbst lassen sich gestaltlich nicht abgrenzen. Das Granulationsgewebe weist selbst nur einzelne, matt-olivgrüne Partien auf, während in den Randbezirken die Braun-Fluoreszenz

überwiegt. Grün-Fluoreszenz findet sich nur in unmittelbarer Nähe noch nicht durchwachsener Implantatteile, d.h. von Baumwollfasern mit wechselnder Grün-Gelb-Fluoreszenz. Inmitten des Granulationsgewebes, hier und da, offenbar im Zytoplasma von Histiozyten liegende mittelgrobe Granula mit rotbrauner Fluoreszenz. Gelegentlich auch kleine, grünschimmernde Leukozytenansammlungen.

18. Tag: Der Aufbau des Knotens ist kaum verändert. Im Zentrum gelbgrüne jüngere Zellkerne mit zart bräunlichem, z.T. körnigen Zytoplasma. Dazwischen, auseinandergedrängt, gelbbraun geränderte Baumwollfaserreste. Die Gewebsstrukturen erscheinen wegen der zahlreichen Riesenzellen wirbelartig formiert (Abb. 31).

30. und 42. Tag: Das fluoreszenzoptische Bild ist gegenüber dem 18. Tag im wesentlichen unverändert. Narbig umgewandeltes Granulationsgewebe fluoresziert satt braun, anhaftende Baumwollfaserreste und benachbarte frischere Granulationen behalten eine gelbgrünliche Fluoreszenz (Abb. 32).

D Besprechung der Befunde

Die Dynamik der Bindegewebsproliferation ist an verschiedenen tierexperimentellen Modellen, so auch am Beispiel der geschlossenen Wundheilung, neben der Anwendung der klassischen histologischen Untersuchungsverfahren mit den modernen Methoden der Histochemie, der Elektronenmikroskopie und der Autoradiographie von zahlreichen Untersuchern studiert worden. (1, 4, 12, 17, 18, 24, 29, 30, 31).

Als gebräuchlichste Verfahren zur Induktion des Bindegewebswachstums gelten die Granulombeutel von SELYE (1953 u.a. mit Terpentin, Kaolin, Crotonöl und Senfmehl), die Implantation von Baumwollwattekugeln (cotton pellets) (MEIER und Mitarbeiter 1960; GRIES und LINDNER 1966; HAUSS et al. 1967), auch die subkutane Einlagerung von Fibrospum oder Hühnereiweiß (GUSEK 1960), und neuerdings, insbesondere für eine quantitative Bemessung, die Implantation kleiner Kunststoffschwämmchen aus verschiedenem Material (Literatur bei SCHMITT und BENEKE 1971). Als weitere im Experiment untersuchte granulombildende Substanzen sind zu nennen: Paraffinöl (1, 13, 21), Talcum (9), Japanischer Agar (14) und Beryllium (24).

Die Anwendung der genannten modernen Untersuchungsmethoden erlaubt heute eine exakte zeitliche Bemessung der gestaltlichen Textur im Ablauf des Bindegewebswachstums, einschließlich der hiermit gekoppelten biochemischen Veränderungen der Grundsubstanz (LINDNER (17, 18)).

Die Verfahren der Elektronenmikroskopie, Histochemie und Autoradiographie sind jedoch aufwendig und bleiben vorwiegend der tierexperimentellen Grundlagenforschung vorbehalten. Demgegenüber fehlt, abgesehen von der klassischen histologischen Methodik, ein einfaches Verfahren, das eine zeitliche Einordnung der verschiedenen Entwicklungsstufen der Bindegewebsproliferation bis zur Narbenbildung in der praktischen Diagnostik ermöglicht.

KORB und KNORR (15) erwähnen in einer Arbeit über vergleichende licht- und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen frischer Herzmuskelschäden beim Menschen, daß das letztgenannte Verfahren besser als andere Methoden gewisse Altersangaben zuläßt. Frisches Granulationsgewebe sei durch einen hell-mattgrünen Untergrund gekennzeichnet, während älteres Granulations- und frisches Narbengewebe durch die kupferrot aufleuchtenden Fibroblasten charakterisiert und von Fibrozyten sicher zu unterscheiden sei. Ältere Narben würden dagegen eine bräunliche bis braunrote Fluoreszenz besitzen.

Unser durch diese Angaben angeregtes Experiment der Erzeugung eines Granulationsgewebes in der Subkutis der Ratte mittels verschiedener Modelle bestätigt im Prinzip die Angaben von KORB und KNORR. Nach 48 Stunden zeigt das zellreiche proliferierende Bindegewebe, gleichartig bei den verschiedenen angewandten Modellen, eine mattgrüne Fluoreszenz, welche Zwischensubstanz und Zytoplasma gleichmäßig einbezieht, während sich Fibrin in zartgrünen Fäden abgrenzt und junge Fibroblastenkerne durch ein leuchtendes Grün hervortreten.

Vom 3. bis 6. Tag nimmt die Intensität der Fluoreszenz ab. Die Zellkerne, bei denen es sich nach der lichtoptischen Korrelation um Fibroblasten und Histiozyten handelt, sind zunächst zart gelbgrün, mit Übergang in mehr olivgrüne Farbtöne bei zunehmendem Alter. Die Grundsubstanz zeigt parallel, jedoch etwas protrahiert, einen Übergang von einem homogenen Mattgrün in ein Gelbgrün. Im Zytoplasma der Zellen, ausgenommen die hellgelb fluoreszierenden Granulozyten und die durch ihr rot fluoreszierendes Zytoplasma und ihren grünen Kern ab-

grenzbaren Mastzellen, tritt zunehmend eine feine gelb- bis rotbräunliche Tüpfelung auf, die sich auch teilweise extrazellulär findet.

Da zu diesem Zeitpunkt, wie wir aus elektronenoptischen und histochemischen Untersuchungen von LINDNER wissen, die Kollagensynthese anläuft, besteht die Möglichkeit, daß es sich hierbei um Vorstufen kollagener Fasern handelt, wie sie auch elektronenoptisch von GUSEK (5) und anderen am gleichen Modell in granulärer Form innerhalb von undifferenzierten Mesenchymzellen und in Fibrozyten gesehen und näher beschrieben wurden. Solche Granula konnten auch extrazellulär nachgewiesen werden. Ihre Größe ist lichtoptisch in Übereinstimmung mit der elektronenmikroskopischen Größenmessung (GUSEK) auf 0,8 bis 1,0 μ einzuschätzen.

Vom 7. bis zum 18. Tag findet sich eine zunehmende leuchtend goldbraune bis kupferrote Fluoreszenz, die sich auf Kerne, Zytoplasma und Zwischensubstanz bezieht. Dabei zeichnet sich in der frühen Phase dieses Zeitraumes ein feines goldbraunes Netzwerk ab, das fließend aus der zuvor beschriebenen bräunlichen Tüpfelung hervorgegangen ist und andererseits Übergänge in die homogene braune Fluoreszenz der Spätphase zeigt.

Vom 18. bis zum 70. Tag, mit zunehmender kollagenfaseriger Ausdifferenzierung der bindegewebigen Proliferationen unter Ausbildung von Narbengewebe, lassen sich weitere Farbumschläge nicht mehr feststellen.

Fluoreszenzmikroskopische vergleichende Testuntersuchungen mit der Acridinorange-Färbung an älteren subpleuralen Lungennarben ergaben gleichfalls eine goldbraune bis kupferrote Fluoreszenz.

Unsere Untersuchungen zeigen demnach, daß die Altersbestimmung proliferierenden Bindegewebes fluoreszenzmikroskopisch nur auf einen kurzen Zeitraum von maximal drei Wochen beschränkt ist. Hier gestattet diese Methode aufgrund der klaren Farbdifferenzen zwischen zelliger und faseriger Proliferation eine schnelle und optisch eindrucksvolle Altersbestimmung der Frühphase bindegewebigen Wachstums.

Dagegen hat sich die Hoffnung, durch Anwendung der Fluoreszenzmikroskopie eine differenzierte Bestimmung des Alters kollagenfaserig ausgereifter Narben zu erreichen, nach unseren Untersuchungen nicht erfüllt.

Abgesehen von dem Ergebnis der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen erlaubt uns unser an verschiedenen Modellen durchgeführtes Experiment eine vergleichende Stellungnahme zu den Befunden und Ergebnissen anderer Untersucher, insbesondere zu den Arbeiten von SCHMITT und BENEKE und den Experimenten von SELYE.

SCHMITT und BENEKE (1971) untersuchten größenmäßig genormte Kunststoffschwämmchen, die, analog unserer Versuchsanordnung, in die Rattenhaut implantiert wurden. Ihre Beschreibung der gestaltlichen Entwicklung des Granulationsgewebes entspricht qualitativ in Bezug auf den vergleichbaren Zeitraum etwa unseren Ergebnissen.

Bei unserem Modell der genormten "cotton pellets" ist die Fibroblastenproliferation am vierten Tag

deutlich ausgeprägt, während SCHMITT und BENEKE schon nach 72 Stunden ein solches Wachstum beobachten konnten. Sie beschrieben bereits nach 48 Stunden die Entwicklung einzelner Riesenzellen aus dem Zusammenfluß von Histiozyten und Makrophagen, während bei uns die Wucherung von Riesenzellen des Fremdkörpertyps vom vierten Tag an zunehmend im Vordergrund steht.

Auch hinsichtlich der Faserbildung besteht bei einem Vergleich mit den Experimenten der genannten Verfasser insofern eine Übereinstimmung, als ab 4. bzw. 5. Versuchstag feine Fasergeflechte auftreten, wobei jedoch die Frage lokal nicht immer sicher zu entscheiden ist, ob die Faserbildung als Produkt der Fibroblasten des Granulationsgewebes oder ortsständiger Fibroblasten anzusehen ist. Wir glauben, nach dem Ergebnis der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung aus dem Auftreten einer Grün-Fluoreszenz der Fasern schließen zu dürfen, daß die Produktion zu diesem Zeitpunkt aus den Fibroblasten des Granulationsgewebes erfolgt. Dies gilt besonders für die Granulationen innerhalb der "cotton pellets" bzw. Kunststoffschwämmchen.

Unsere Untersuchungen zeigen ebenso wie die von SCHMITT und BENEKE die Entwicklung einer kollagenfaserigen Kapsel vom 5. bzw. 6. Tag an, die sich bis zum 12. Tag deutlich verstärkt.

Die wichtige Feststellung von SCHMITT und BENEKE einer fortdauernden induktiven Reizwirkung implantierten Kunststoffmaterials für die Proliferation von Granulations- und Bindegewebe können wir durch unsere Untersuchungen auch für die Modelle der Baumwollimplantate und des Crotonöls bestätigen. Gerade mit der fluoreszenzmikroskopischen

Methode sind solche frisch aufschießenden Inseln hellgrün fluoreszierenden Granulationsgewebes auch noch am 70. Tag in der Nähe von Baumwollfaserresten und Crotonölrückständen gut zu beobachten und schnell zu erfassen.

Bemerkenswert ist ferner das Auftreten von Fettgewebsinseln innerhalb der Granulationen, die SCHMITT und BENEKE bei jungen Ratten nach 5 Wochen und bei alten Tieren nach 7 bis 9 Wochen beobachten konnten und in Analogie zu den Fettgewebsinseln in Myocardnarben (GEDIGK u. GIERSBERG) entweder als Folge von eingewachsenem praeformierten Fettgewebe oder als Metaplasie von Bindegewebe ansehen. Solche Inseln konnten wir in unseren Versuchsreihen nicht entdecken, abgesehen von der Außenzone, wo uns eine Unterscheidung von praeformiertem Fettgewebe nicht möglich erschien.

Eine metaplastische Knochenentwicklung, wie SCHMITT und BENEKE sie bei älteren Tieren etwa ein Jahr nach Versuchsbeginn beobachteten, fanden wir bei unseren Tieren nicht, wofür vermutlich die kürzere Versuchsdauer ausschlaggebend ist; lediglich in zwei Fällen konnten wir eine umschriebene dystrophische Verkalkung innerhalb der Granulationen beobachten (vergl. Abb. 13).

Von SELYE wird als grundsätzliches Verhalten bei der von ihm entwickelten Granulombeuteltechnik die Ausbildung eines Granulationsgewebes und weiterer struktureller Wandveränderungen wie Fibroplasie und Fremdkörperriesenzellbildung nur in Form einer wandständigen Schale herausgestellt. Eine Tendenz, das Lumen des Granulombeutels zu überbrücken oder durch massives Wachstum die Höhle auszufüllen, hat SELYE niemals beobachtet, sondern nur nach

Anwendung einer künstlichen Leitschiene in Form eines Glasröhrchens gesehen.

Nach unseren Versuchen mit der SELYE'schen Granulombeuteltechnik unter Verwendung von Crotonöl als Injektion in das gesetzte Pneumoderma scheinen zwei Möglichkeiten der geweblichen Reaktion gegeben:

1. Entsprechend der Darstellung von SELYE verbleibt ein Ölrest unverändert im Zentrum. Er wird zunächst von jüngerem kapillarreichen Granulationsgewebe umsäumt, welches später durch Faserentwicklung verstärkt und durch das Auftreten von histiozytären Speicher- und Fremdkörperriesenzellen modifiziert wird. Infolge des hohen Binnendrucks der Flüssigkeit wird der Hohlraum nicht überbrückt und das Reaktionsprodukt der Nachbarschaft mit zunehmendem Alter in eine parallelfaserige, abgeplattete, fast kernlose und hyalinisierte Innenschicht umgeformt. In der Wand liegende, abgesprengte, kleinere oder größere Öltropfen bleiben, wie oben erwähnt, auf lange Zeit von floriden Granulationen umsäumt.

2. In nicht wenigen Fällen konnten wir jedoch im Gegensatz zu SELYE, unabhängig von der Größe des ölgefüllten Hohlraumes, eine Überbrückung beobachten. Diese vermag sich, insbesondere bei stärkerer Fibrinabscheidung, an der Innenfläche randständiger Granulationen zu entwickeln. Wie wir zeigen konnten (Abb. 7 a u. b), benutzen die Fibroblasten die in das Lumen flottierenden verästelten Fibrinfäden als Leitschienen zur Überbrückung des Hohlraumes. Mit zunehmendem Alter werden die durch Faserbildung und nachfolgende Kapillarisierung innerhalb des

Lumens entstandenen Gitternetze von engmaschigen Feldern verschiedener Speicherzellen durchsetzt, so daß schließlich eine weitgehende organisatorische Durchwachsung des Beutels zustande kommt, mit Einschluß kleinerer oder größerer aufgesplitterter Öldepots.

Auf diese Weise verbleiben in Nachbarschaft der Ölrückstände stets jüngere Zonen von Granulationsgewebe - neben einer fortschreitenden Stabilisierung in Form hyaliner Narbenbildung in Bezirken ohne andauernde Stimulierung. Die Gesamtgröße des Granulombeutels nimmt auch bei zentral verbleibendem Ölrückstand langsam durch Resorption der injizierten Luft sowie flüssiger Exsudatmassen ab.

Die Zellreaktionen entsprechen ansonsten in allen Versuchsreihen den schon bekannten experimentellen Ergebnissen am Beispiel der inneren Wundheilung.

E Zusammenfassung

Angeregt durch fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen von KORB und KNORR am frischen Herzinfarkt, wurde versucht, am Modell der inneren Wundheilung mit dieser Methode und durch vergleichende histologische Untersuchung, eine altersmäßige Differenzierung von granulierendem und vernarbendem Bindegewebe vorzunehmen.

Bei 100 weiblichen Ratten wurden mittels der Granulombeuteltechnik in der Rückenhaut durch Crotonöl und Baumwollimplantate, sog. "cotton pellets", Granulationen gesetzt. Die Untersuchungen der Granulome erfolgten am 2., 4., 6., 12., 18. und vom 30. bis zum 70. Tag.

Ergebnisse:

1. Das zellreiche Granulationsgewebe zeigt gleichartig im Crotonöl- und im Baumwollimplantationsversuch nach 48 Stunden eine mattgrüne Fluoreszenz von Zytoplasma und Zwischensubstanz. Fibrinnetze sind zartgrün und junge Fibroblasten durch ein leuchtendes Grün gekennzeichnet.

2. Die Intensität der Fluoreszenz nimmt vom 3. bis 6. Tag ab mit Übergang in gelbgrüne und gelbbräunliche Farbtöne für die Fibroblasten und Histiozyten, ebenso für die Grundsubstanz. Im Zytoplasma der Fibrozyten tritt im gleichen Zeitraum eine feine gelbbräunliche Tüpfelung auf, teilweise auch extrazellulär, als Ausdruck der zu diesem Zeitpunkt anlaufenden Kollagensynthese.

3. Zellkerne, Zytoplasma und Zwischensubstanz zeigen vom 7. bis 18. Tag eine zunehmende leuchtend goldbraune bis kupferrote Fluoreszenz, wobei netzförmige Formationen der Frühphase später in eine mehr homogene Anordnung übergehen. Nach dem 18. bis zum 70. Tag lassen sich weitere wesentliche fluoreszenzoptische Farbumschläge nicht feststellen.

4. Die fluoreszenzoptische Methodik erlaubt somit eine altersmäßige Zuordnung proliferierenden Bindegewebes nur für den kurzen Zeitraum von maximal drei Wochen. Innerhalb dieser Zeit ermöglicht die Methode eine schnelle und optisch eindrucksvolle Darstellung der zelligen und faserigen Elemente des Granulationsgewebes. Nach der kollagenfaserigen Reifung des Bindegewebes erfolgt mit zunehmender narbiger Verdichtung kein weiterer Farbumschlag.

5. Die histologische Analyse des zeitlichen Ablaufes der Granulationen mit Abkapselung oder organisatorischer Durchwachsung der eingeführten Fremdsubstanzen entspricht im wesentlichen bekannten experimentellen Ergebnissen. Im Gegensatz zu SELYE, der im Granulombeutelversuch niemals eine spontane Überbrückung und massive Organisation des Hohlraumes, sondern nur eine schalenförmige Abkapselung beobachtete, konnte ein solches Verhalten im Crotonölversuch, je nach Größe des Hohlraumes, ganz oder teilweise, häufig nachgewiesen werden. Als Leitschiene zur Überbrückung des ölgefüllten Hohlraumes dienen den Fibroblasten flottierende, verästelte Fibrinfäden. Die mehr oder minder vollständige organisatorische Durchwachsung erfolgt durch anschließende Kapillarisierung und Durchsetzung des Maschenwerkes mit verschiedenartigen Speicherzellen. Selbst bei fortschreitender narbiger Umwandlung bleiben in Nachbarschaft der Ölrückstände stets jüngere Zonen frischen Granulationsgewebes bestehen, die auch fluoreszenzoptisch durch ihre leuchtende Grünfärbung schnell abgrenzbar sind.

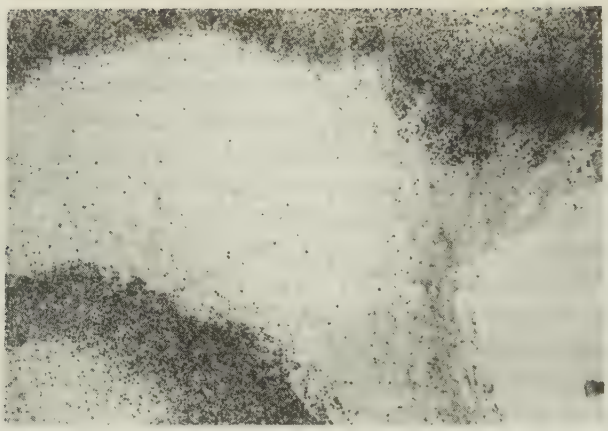

Abb. 1: Crotonölgranulom. 2. Tag. Zentrale Höhle partiell mit fibrinösem Exsudat gefüllt. Breite Demarkation durch leukozytären Randwall.
Tier 69, H.E., 63 x.

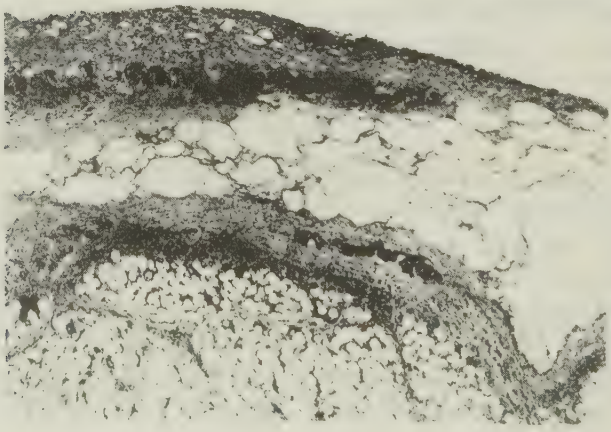

Abb. 2: Crotonölgranulom. 2. Tag. Zentraler Hohlraum mit netzförmigen Fibringerinnseln, Randsaum aus Fibrin und Granulozyten, außen praeformiertes Fett-, Binde- und Muskelgewebe mit zellulärer Infiltration.
Tier 70, H.E. 25 x .

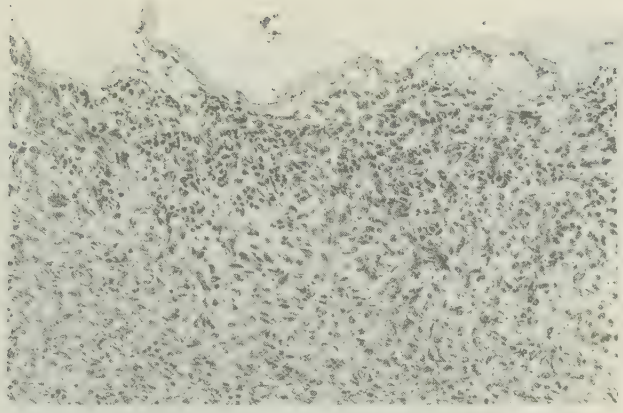

Abb. 3: Crotonölgranulom. 4. Tag. Randzone des zentralen Hohlraums mit tapetenartiger Fibrinauskleidung und jungem kapillarreichen Granulationsgewebe und mit Fibroblastensprossung in der Außenzone.
Tier 67, H.E., 160 x.

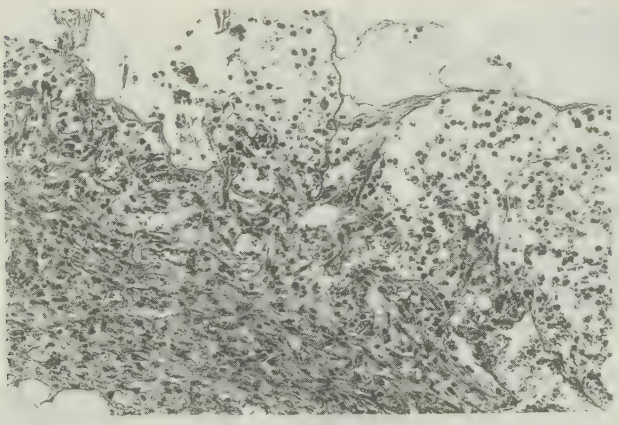

Abb. 4: Crotonölgranulom. 4. Tag. Randzone des zentralen Hohlraumes mit granulozytär durchsetzten Fibrinnetzen, darunter verästelte Kapillarsprossungen und in der Außenzone Fibroblastenwucherungen.
Tier 67, H.E., 160 x.

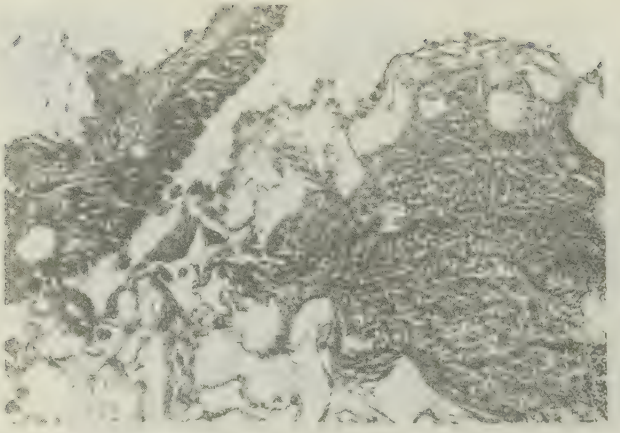

Abb. 7 b: Crotonölgranulom. 12. Tag. Randzone einer größeren Ölzyste mit flottierenden Fibrinnetzen als Leitschiene für palisadenartig sprossende Fibroblasten (vergl. Abb. 28 b).
Tier 28, H.E., 160 x.

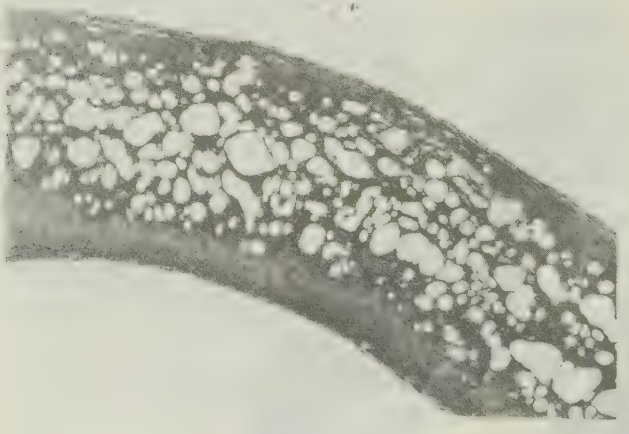

Abb. 8: Crotonölgranulom. 18. Tag. Wandübersicht. Fibrös stabilisiertes Granulationsgewebe mit zahlreichen Ölzysten. Außen und innen parallelfaserige wallartige Begrenzung, Innenfläche glatt.
Tier 34, H.E., 25 x.

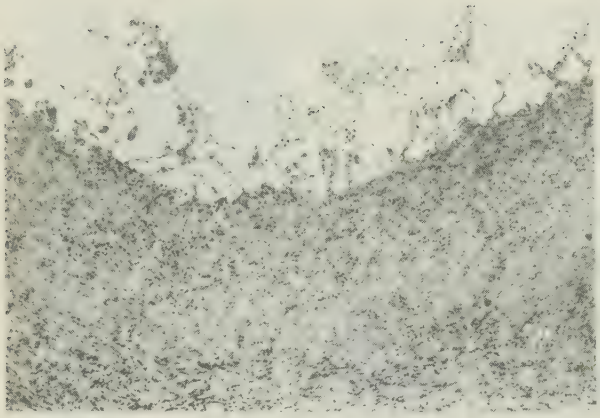

Abb. 9: Crotonölgranulom. 18. Tag. Fibrös stabilisierte Wand. Kleine Bucht mit von Fibroblasten besetztem Fibrinnetzwerk und mit eingelagerten histiozytären Speicherzellen.
Tier 31, H.E., 63 x.

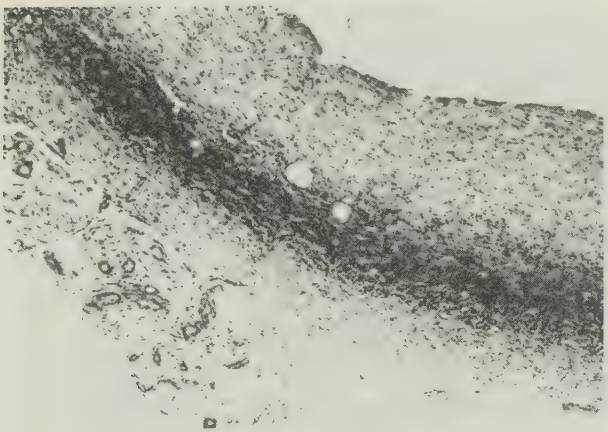

Abb. 10: Crotonölgranulom. 18. Tag. Übersicht. Stabilisierte Wand mit faserreichem Bindegewebe und dichter lymphozytärer Infiltration, hier nur wenige kleine Ölzysten.
Tier 33, H.E. 63 x.

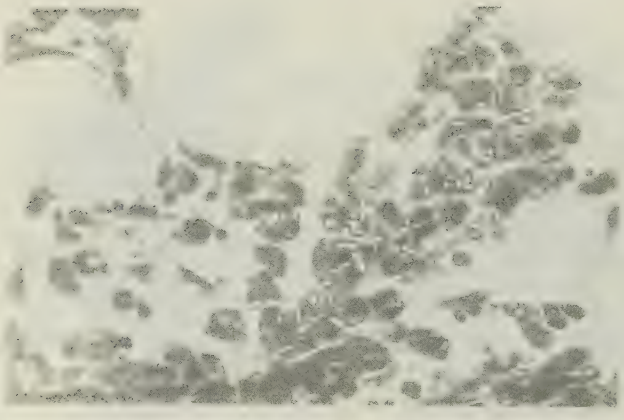

Abb. 11 a: Crotonölgranulom. 18. Tag. Ausschnitt der Wandinnenzone mit kleinen Ölzysten und verfetteten Histiozyten.
Tier 23, H.E., 400 x.

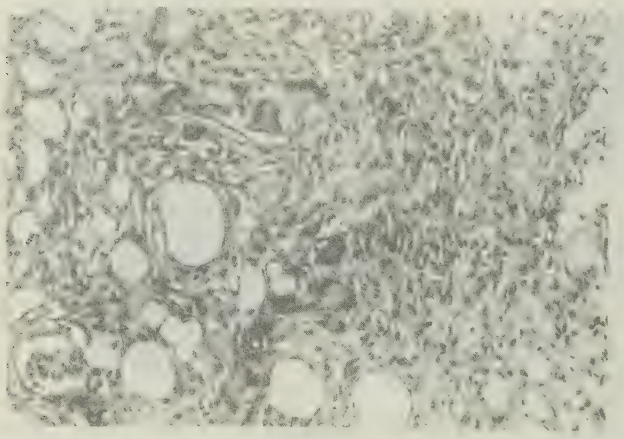

Abb. 11 b: Crotonölgranulom. 18. Tag. Ausschnitt der Wandinnenzone, multiple kleine Ölzysten, kapillarreiches Granulationsgewebe mit Histiozyten und Fremdkörperriesenzellen.
Tier 37, H.E., 160 x.

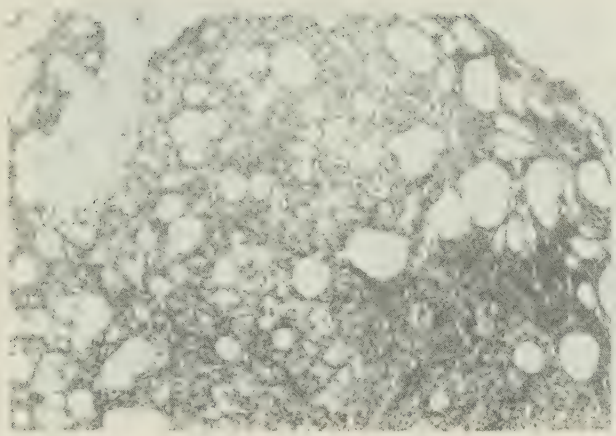

Abb. 12: Crotonölgranulom. 30. Tag. Aktives kapillarreiches Granulationsgewebe im Bereich der intramuralen Crotonölrückstände mit Schaumzellfeldern.
Tier 42, H.E., 63 x.

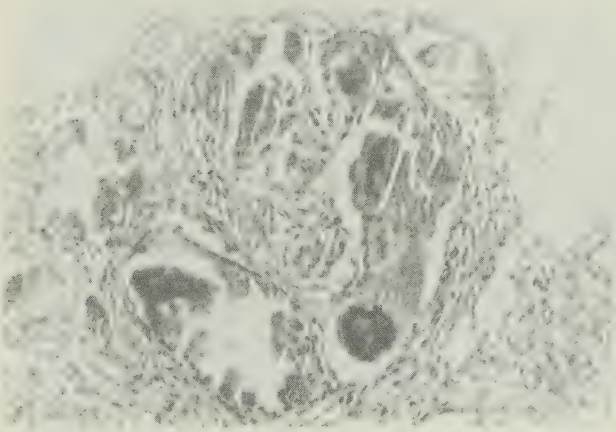

Abb. 13: Crotonölgranulom. 42. Tag. Umschriebene schollige Verkalkungen mit Fremdkörperriesenzellen.
Tier 36, H.E., 160 x.

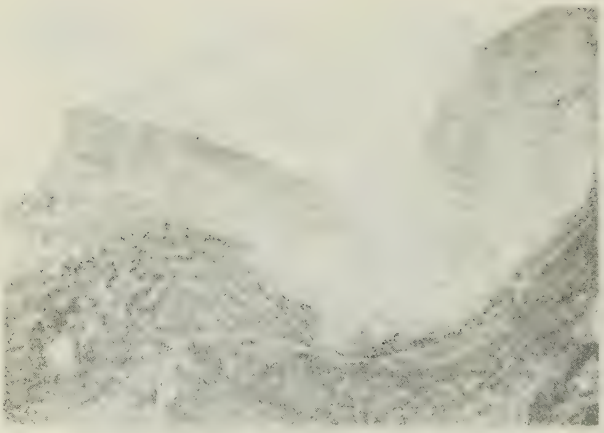

Abb. 14: Crotonölgranulom. 54. Tag. Zentraler Hohlraum mit wallartig bindegewebig stabilisierter Innenzone. Gewellter, oft wirbelartiger Faserverlauf.
Tier 55, H.E., 25 x.

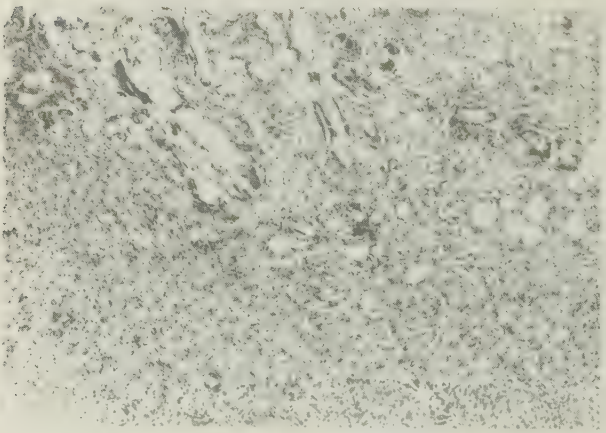

Abb. 15: Baumwollgranulom. 4. Tag. Zentraler Bezirk mit Baumwollfaserresten und benachbarten Fremdkörperriesenzellen. Außen fibroblastenreiches Granulationsgewebe.
Tier 93, H.E., 63 x.

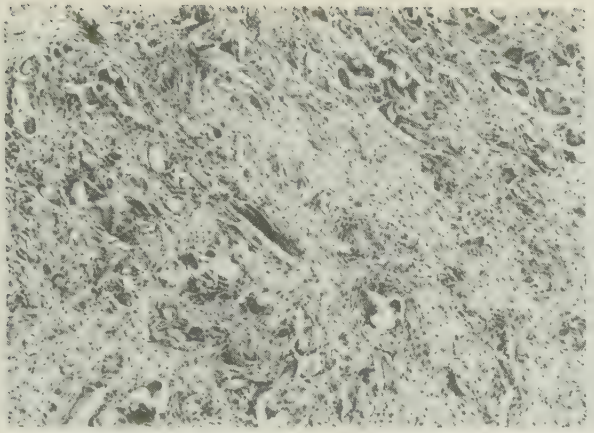

Abb. 16: Baumwollgranulom. 12. Tag. Zahlreiche Fremdkörperriesenzellen mit eingeschlossenen Baumwollfaserresten neben faserreichem Granulationsgewebe (vergl. Abb. 29).
Tier 86, H.E., 63 x.

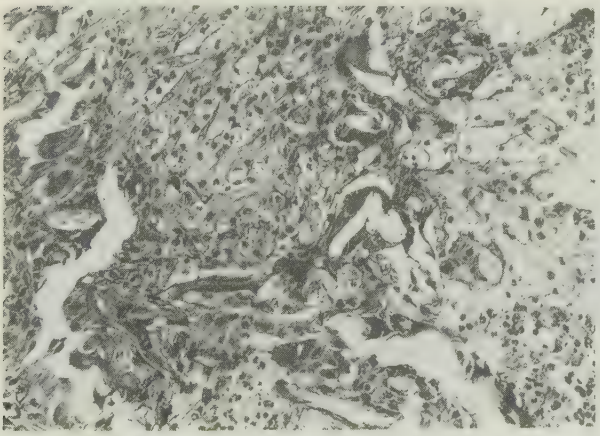

Abb. 17: Baumwollgranulom. 12. Tag. Baumwollfaserreste mit Fremdkörperriesenzellen, benachbarte Schaumzellfelder.
Tier 94, H.E., 160 x.

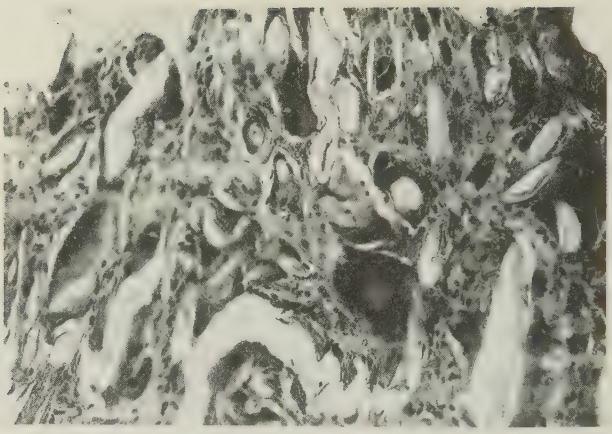

Abb. 18: Baumwollgranulom. 30. Tag. Baumwollfaserreste mit zahlreichen vielkernigen Fremdkörperriesenzellen, z.T. unter Bildung von Riesenzellsymplasmen.
Tier 82, H.E., 160 x.

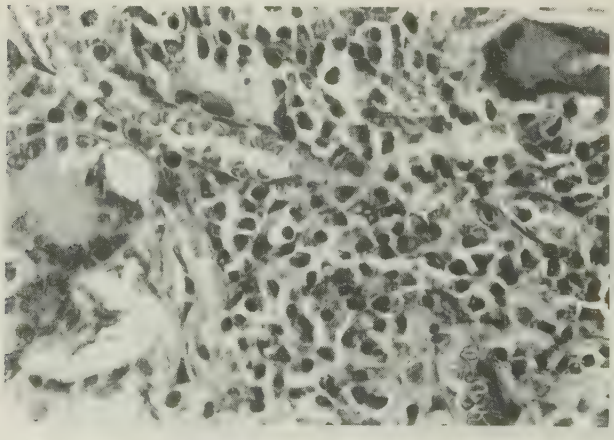

Abb. 19: Baumwollgranulom. 42. Tag. Fremdkörperriesenzellen mit Baumwollfaserresten, benachbarte plasmazelluläre Infiltrate.
Tier 84, H.E., 160 x.

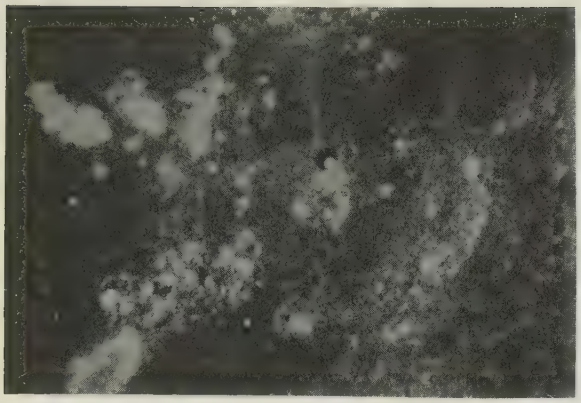

Abb. 20 a: Crotonölgranulom. 4. Tag. Grün fluoreszierendes, landkartenartig angeordnetes frisches Granulationsgewebe mit hellgrünen Kernen und eingelagerten Crotonölrückständen mit gelblicher Fluoreszenz.
Tier 67, Acridinorange, 63 x.

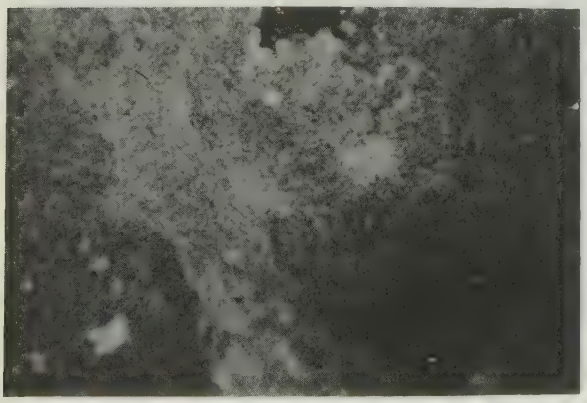

Abb. 20 b: Crotonölgranulom. 4. Tag. Frisches Granulationsgewebe, grün fluoreszierend mit hellgrünen Kernen. Crotonölrückstände gelblich.
Tier 67, Acridinorange, 23 x.

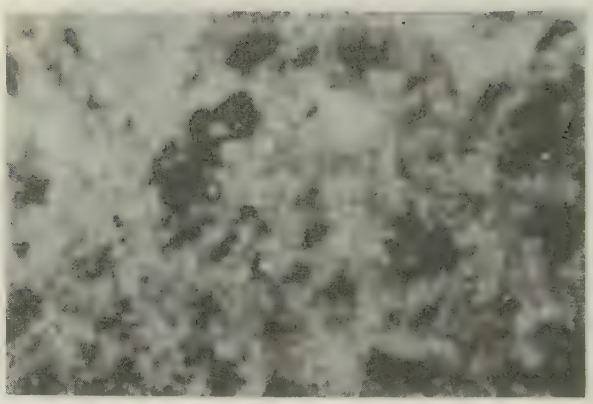

Abb. 21: Crotonölgranulom. 2. Tag. Netzförmiges, fibrinhaltiges Granulationsgewebe mit leuchtend grüner Fluoreszenz, hellgrünen Kernen und gelb fluoreszierenden Crotonölrückständen.
Tier 70, Acridinorange, 160 x.

Abb. 22: Crotonölgranulom. 4. Tag. Ausschnitt aus Granulomwand, re. oben grün fluoreszierendes Fibrinnetzwerk, darunter leukozytärer Wall. Grün fluoreszierender Mittelstreifen mit jungem fibroblastenhaltigen Granulationsgewebe, Kerne hellgrün. Unten li. entzündlich aufgelockertes, bräunlich fluoreszierendes praeformiertes Gewebe.
Tier 67, Acridinorange, 63 x.

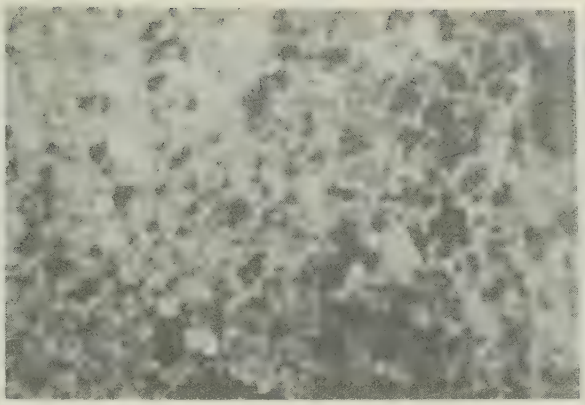

Abb. 23: Crotonölgranulom. 4. Tag. Im Zentrum junges Granulationsgewebe mit leuchtend grüner Fluoreszenz, Crotonölrückstände als gelbe Plaques, re. und li. außen gelbbräunlich fluoreszierende faserreiche Granulationen, auch hier grüne Fibroblastenkerne.
Tier 67, Acridinorange, 63 x.

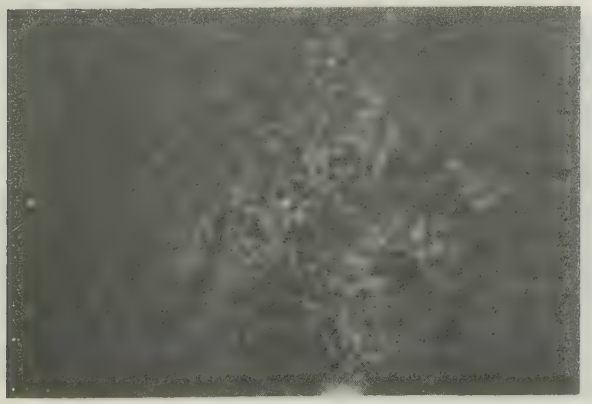

Abb. 24: Crotonölgranulom. 4. Tag. Grün fluoreszierendes Bindegewebe mit leuchtend grünen Fibroblastenkernen, Fasern zart braun, rot fluoreszierende Mastzellen in Gefäßnähe.
Tier 67, Acridinorange, 160 x.

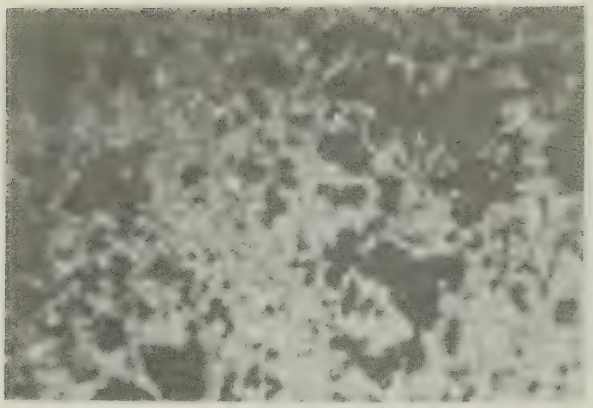

Abb. 25: Crotonölgranulom. 6. Tag. Ausschnitt der Randpartie des Ölgranuloms mit gelbbräunlich fluoreszierendem, bereits ausreifendem, faserreichen Granulationsgewebe. Fibroblastenkerne gelbgrün, Ölrückstände hier als kleine grünliche Tröpfchen (vergl. Abb. 5 b).
Tier 18, Acridinorange, 63 x.

Abb. 26 a: Crotonölgranulom. 18. Tag. Älteres fibrosiertes Granulationsgewebe mit jetzt gelbbräunlicher bis kupferroter Fluoreszenz. Grün: Crotonölrückstände.
Tier 33, Acridinorange, 25 x.

Abb. 26 b: Crotonölgranulom. 18. Tag. Älteres Granulationsgewebe mit braun fluoreszierendem Fasernetz. Crotonölrückstände grün und gelb.
Tier 33, Acridinorange, 160 x.

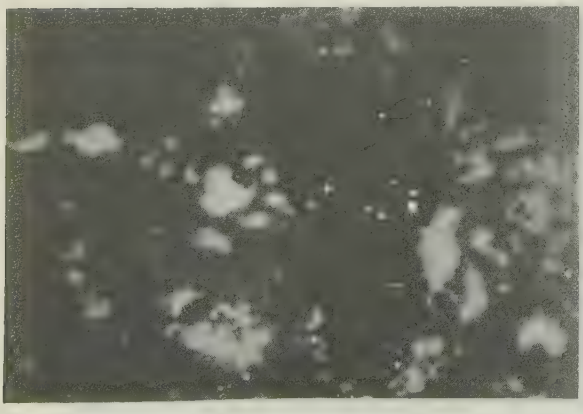

Abb. 27: Crotonölgranulom. 18. Tag. Hyalinisierter Verdichtungsbezirk mit rotbrauner bis kupferroter Fluoreszenz und mit gelben Crotonölrückständen.
Tier 36, Acridinorange, 63 x.

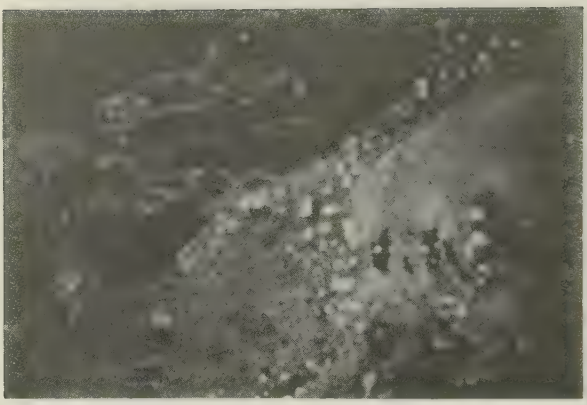

Abb. 28 a: Crotonölgranulom. 42. Tag. Fibrös stabilisierte Randzone mit gelbbrauner bis kupferroter Fluoreszenz, eingeschlossen gelbe Crotonölrückstände. Angrenzend nicht ganz frische, grünbräunlich fluoreszierende, in den Hohlraum flottierende Fibrinnetze mit perlschnurartig aufsitzenden bräunlichen Fibroblastenkernen, daneben grün fluoreszierende Ölrückstände (vergl. Abb. 7 a).
Tier 48, Acridinorange, 160 x.

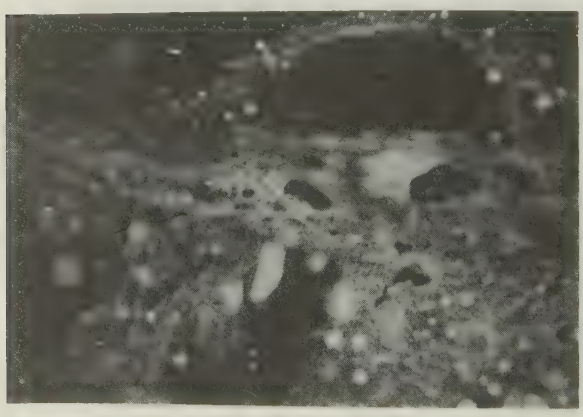

Abb. 28 b: Crotonölgranulom. 42. Tag. Ältere Fibrinnetze an der Innenwand des Granulombeutels, perlschnurartig mit braun fluoreszierenden Fibroblastenkernen besetzt. Daneben tropfenförmige Ölrückstände. Innenfläche durch frischen Fibrinbelag grün fluoreszierend. Unten fibrös stabilisierte Wand mit gelbbrauner bis kupferroter Fluoreszenz und mit gelben sowie grünen Ölrückständen (vergl. Abb. 7 b).
Tier 48, Acridinorange, 160 x.

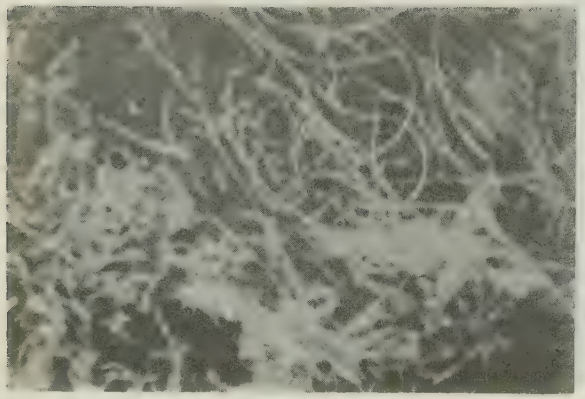

Abb. 29: Baumwollgranulom. 4. Tag. Zentrale Partie mit leuchtend gelb bis gelbgrün fluoreszierenden Faserresten, dazwischen jüngeres grünliches Granulationsgewebe mit grünen Fibroblastenkernen (vergl. Abb. 16).
Tier 90, Acridinorange, 160 x.

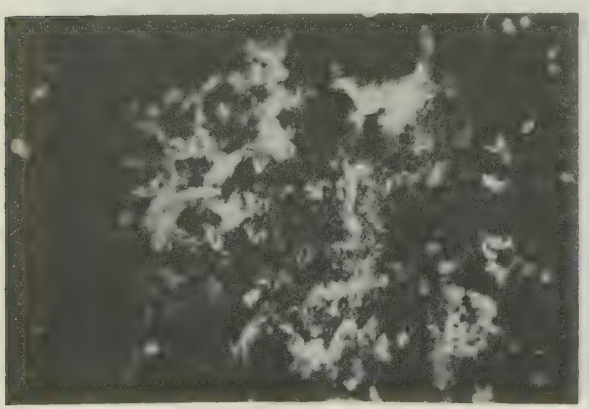

Abb. 30: Baumwollgranulom. 6. Tag. Unterschiedlich altes Granulationsgewebe mit gelbgrün fluoreszierenden Faserresten. Junge Granulationen grünlich mit grünen Kernen, ältere, stärker faserhaltige, braunrot mit noch grünen Fibroblastenkernen.
Tier 88, Acridinorange, 63 x.

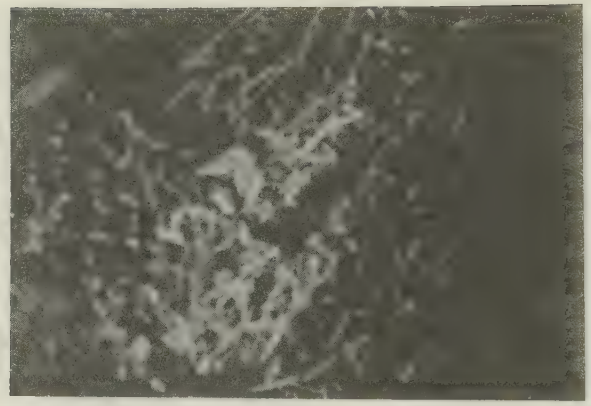

Abb. 31: Baumwollgranulom. 18. Tag. Zerbröckelte Baumwollfaserreste gelbgrün fluoreszierend, oft wirbelartig angeordnet.
Tier 91, Acridinorange, 63 x.

Abb. 32: Baumwollgranulom. 42. Tag. Narbig umgewandeltes Granulationsgewebe mit satt rotbrauner Fluoreszenz. Anliegende Baumwollfaserreste grün mit gelben Konturen, benachbarte frische Granulationen grünlich bis gelbbräunlich getüpfelt.
Tier 98, Acridinorange, 160 x.

G Literaturverzeichnis

1) ARAMBAŠIC, M.: Histologische und histochemische Untersuchungen des Paraffingranuloms.
Frankfurt. Z. Path. 71, 327-333 (1961).

2) BUKHONOVA, A.I.: Proliferation von Granulationsgewebe und jungem Epithel bei wechselnder Zufuhr verschiedener Hormone.
Arch. Path. (Moskau) 27, Nr. 3, 43-48.

3) GEDIGK, P. und GIERSBERG, O.: Über die Entstehung von Fettgewebe in Herzmuskelschwielen.
Virchows Arch. path. Anat. 339, 275-282 (1965).

4) GRIES, G. und LINDNER, J.: Die Beeinflussung der Bindegewebsentwicklung im Baumwollgranulom durch Antiphlogistika.
Arch. exper. Path. Pharmakol. 245, H. 1.87 (1963).

5) GUSEK, W.: Zur Ultrastruktur und Natur der Granula in Fibrozyten und "pseudoeosinophilen" Leukozyten im faserbildenden Granulationsgewebe.
Frankfurt. Z. Path. 70, 523-535 (1960).

6) HANKE, W.: Beeinflussung der Wundheilung bei Säugetieren durch histologische und morphogenetische Substanzen.
Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. 153, 669-702 (1962).

7) HAUSS, W.H., JUNGE-HÜLSING, G., SCHMITT, G., WAGNER, H.: Über den Einfluß eines Pyrimidopyrimidin-Derivates auf das Bindegewebe. Arzneimittel-Forsch. 17, 964-967 (1967).

8) HECHT, A., KORB, G., DAVID, H.: Vergleichende fluoreszenzmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen zur Frühdiagnose des Herzinfarktes bei der Ratte. Virch. Arch. 334, 267-284 (1961).

9) HUPE, K.: Fremdkörpergranulome durch Handschuhpuder (tierexperimentell). Chirurg 33, 97-98 (1962).

10) HUPE, K. und ROEPER, R.: Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wundheilung. Bruns' Beitr. klin. Chir. 211, 214-221 (1965).

11) JOHNSON, F.R. and Mc MINN, R.M.H.: The cytology of wound healing of bodysurfaces in mammals. Biol. Rev. 35, 364-412 (1960).

12) JUNGE-HÜLSING, G.: Stoffwechsel von Sulfomucopolysacharidеn in Granulationsgeweben. Z. Rheumaforschung. 18, 355-367 (1959).

13) KISSLING, U., ROOS, B., JOOS, F., BÜRKI, H., LAISSUE, J.: Zellwanderung und Zellproliferation während der Entstehung des experimentellen Ölgranuloms bei der Maus. Beitr. path. Anat. 139, 115-137 (1969).

14) KONNO, K. and TETSUKA, T.: Studies of the connective tissue.
I. The granuloma-formation induced by the implantation of Japanese Agar.
J. Biochem. (Tokyo) 53, 231-237 (1963).

15) KORB, G. und KNORR, G.: Vergleichende licht- und fluoreszenzmikroskopische Untersuchung frischer Herzinfarkte am Menschen.
Virch. Archiv path. Anat. 335, 159-164 (1962).

16) LEVERSON, S.M., GEEVER, E.F., CROWLEY, L.V., OATES III, J.F., BERARD, C.W. and ROSEN, H.: The healing of rat skin wounds.
Ann. Surg. 161, 293-308 (1965).

17) LINDNER, J.: Die Morphologie der Wundheilung.
Langenbecks Archiv, 39-67 (1962).

18) - : Quantitative und qualitative Bestimmungen der Regeneration von Bindegewebe.
Verhandl. d. deutsch. Ges. f. Pathologie, 50. Tgg. 286-293 (1966).

19) - : Die chronische Entzündung aus der Sicht des pathologischen Anatomen.
Med. Welt, N.F. 20, 279-283 (1969).

20) - : Persönliche Mitteilung Mai 1971.

21) LÖBLICH, H.J. und ARAMBAŠIC, M.: Die Ultrastruktur des Paraffingranuloms.
Frankfurt. Z. Path. 71, 232-245 (1961).

22) MADDEN, J.W. and PEACOCK jr., E.E.: Studies on the biology of collagen during wound-healing.
I. Rate of collagen synthesis and deposition in cutaneous wounds of the rat.
Surgery 64, 288-294 (1968).

23) MEIER, R., SCHULER, W., DESAULLES, P.: Zur Frage des Mechanismus der Hemmung des Bindegewebswachstums durch Cortisone.
Experientia (Basel) 6, 469-471 (1950).

24) MESTWERDT, W. und GUSEK, W.: Histomorphologie und Cytochemie von experimentellen Beryllium-Granulomen in der Meerschweinchenhaut.
Hautarzt, 19, 56-61 (1968).

25) MILLER, L. and WHITTING, W.H.: Mast cells and wound-healing of the skin in the rat.
Z. Zellforsch. 65, 579-606 (1965).

26) NÉMETH-CSÓKA, M.: Untersuchungen über die Kollagenfasern.
V. Über die durch das Altern bedingten Veränderungen im Bindegewebe (Vergleichende chemisch-morphologische Untersuchungen).
Acta histochem. (Jena) 20, 65-81 (1965).

27) ROSS, R. and BENDITT, E.P.: Woundhealing and collagen formation.
I. Sequential changes in components of guinea pig skin wounds observed in the electron microscope.
J. biophys. biochem. Cytol. 11, 677-700 (1961).

28) - : Woundhealing and collagen formation.
II. Fine structure in experimental scurvy.
J. Cell Biol. 12, 533-551 (1962).

29) SCHMITT, W. und BENEKE, G.: Das Bindegewebswachstum in subkutan implantierten Kunststoffschwämmchen bei der Ratte.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 9, 218-234 (1971).

30) SELYE, H.: Use of "Granuloma Pouch" technic in the study of antiphlogistic corticoids.
Proc. Sec. exp. Biol. (N.Y.) 82, 328-333 (1953).

31) - : Gewebsdiaphragmen zum Studium der Physiopathologie des Kollagens.
Medizinische 1959, 617-622 u. 653-655.

32) -, SOMOGYI, A. and MÉCS, I.: Influence of mast cells and vasoconstrictors upon various acute connective-tissue reactions.
Angiologica (Basel) 5, 172-185 (1968).

33) SPECTOR, W.G., HEESOM, Nicolette and STEVENS, J.E.: Factors influencing chronicity in inflammations of rat skin. J. Bact. (Edinb.) 96, 203-213 (1968).

34) VERZÁR, F. und WILLENEGGER, H.: Das Altern des Kollagens in der Haut und in Narben. Schweiz. med. Wschr. 91, 1234-1236 (1961).

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. C.J. Lüders, Dirig. Arzt des Pathologischen Institutes des Städt. Wenckebach-Krankenhauses Berlin - Tempelhof, danke ich für die Überlassung der Arbeit sowie seine vielseitigen Anregungen und freundliche Unterstützung, ebenso den Mitarbeitern des Institutes, die mir bei der Ausführung und Fertigstellung behilflich waren.

Lebenslauf

Am 26. Juni 1941 wurde ich als Tochter des Fliesenlegers Friedrich Baumert und seiner Ehefrau Margarete Baumert geb. Grobis in Berlin geboren. Von September 1947 bis März 1953 besuchte ich die I. Grundschule in Berlin-Tempelhof, anschließend das Luise-Henriette Gymnasium, an dem ich im März 1960 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Sommersemester 1960 bis zum Wintersemester 1965/66 war ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Hier bestand ich nach zwei Semestern das Vorphysikum, nach fünf Semestern das Physikum. Im April 1966 legte ich das medizinische Staatsexamen mit dem Prädikat "gut" ab.

Nach meiner Medizinalassistentenzeit vom September 1966 bis Oktober 1968, die ich an verschiedenen Abteilungen des Städt. Wenckebach-Krankenhauses in Berlin-Tempelhof ableistete (Chirurgische Abt.: Chefarzt Dr. Weiss, Innere Abt.: Chefarzt Prof. Dr. Germer, Gynäkologische Abt.: Chefarzt Prof. Dr. Gansau und Patholog. Institut: Dirig. Arzt: Priv.-Doz. Dr. Lüders), erhielt ich mit Wirkung vom 29. Oktober 1968 meine Bestallung als Ärztin.

Anschließend arbeitete ich bis Dezember 1970 als Assistenzärztin im Pathologischen Institut des Städt. Wenckebach-Krankenhauses (Dirig. Arzt: Priv.-Doz. Dr. Lüders), wo ich den experimentellen Teil meiner Arbeit durchführte.

Seit März 1964 bin ich mit dem Diplom-Wirtschaftsingenieur Frank Heinze verheiratet und habe zwei Kinder. Wegen der Geburt meiner Tochter habe ich meine Berufstätigkeit unterbrochen und mich mit der vorliegenden Dissertation beschäftigt.